

超声辅助酶解对龙头鱼蛋白肽理化性质及风味特性的影响

The effect of ultrasound assisted enzymatic hydrolysis on the physicochemical properties and flavor characteristics of protein peptides from *Harpodon nehereus*

芦江会¹ 陈跃文² 付晶晶² 隆勇杰²

LU Jianghui¹ CHEN Yuewen² FU Jingjing² LONG Yongjie²

(1. 宁波市产品食品质量检验研究院〔宁波市纤维检验所〕, 浙江 宁波 315000;

2. 浙江工商大学食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310018)

(1. Ningbo Product and Food Quality Inspection and Research Institute, Ningbo, Zhejiang 315000, China;

2. School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China)

摘要:目的:解决龙头鱼酶解蛋白肽鲜味低、苦味重、风味不良等问题。方法:利用超声辅助酶解法制备龙头鱼蛋白肽,以木瓜蛋白酶作为催化剂,研究不同超声功率(0, 120, 240, 480, 600 W)条件下龙头鱼蛋白肽粒径、水解度、可溶性多肽含量、相对分子质量分布、游离氨基酸含量以及电子舌风味信号的变化,进而探究不同超声强度对龙头鱼蛋白肽结构及风味特性的影响。结果:超声强度 360 W、超声时间 1 h,水浴温度 55 ℃ 以及水浴时间 4 h 的条件下,蛋白质水解度达到 19.29%,可溶性多肽含量为 0.57 mg/mL,超声辅助显著降低了龙头鱼蛋白肽的粒径和相对分子质量,相对分子质量<3 000 的组分占比从 67%增加至 82%。此外,龙头鱼蛋白肽中,苦味氨基酸占主要地位,其次是甜味和鲜味氨基酸。超声辅助酶解蛋白肽中鲜味游离氨基酸含量的增幅最大,因此,超声辅助酶解通过增加鲜味氨基酸的含量降低了龙头鱼蛋白肽的苦味。结论:超声辅助可以提高龙头鱼蛋白的酶解作用,进而改善龙头鱼多肽的理化性质及风味特性。

关键词:龙头鱼;蛋白肽;超声;结构;风味特征

Abstract: Objective: This study aimed to solve the problems of low freshness, heavy bitterness, and poor flavor of protein

peptides hydrolyzed by enzymes of *Harpodon nehereus* (HN).

Methods: Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis method was used to prepare the HN protein peptides. Papain was selected as the catalyst to study the changes in particle size, hydrolysis degree, soluble peptide content, relative molecular mass distribution, free amino acid content, and electronic tongue flavor signal of the HN protein peptides under different ultrasound power (0, 120, 240, 480, 600 W). The effect of different ultrasound intensities on the structure and flavor of HN protein peptides was studied. **Results:** Under the control of the conditions of ultrasound intensity of 360 W, ultrasound time of 1 h, water bath temperature of 55 ℃, and water bath time of 4 h, the protein hydrolysis degree reached 19.29%, and the soluble peptide content was 0.57 mg/mL. Ultrasound assisted significantly reduced the particle size and relative molecular mass of HN protein peptides, and the proportion of components <3 000 increased from 67% to 82%. In addition, the bitter amino acids dominate the protein HN protein peptides, followed by sweet and fresh amino acids. The increase in the content of fresh free amino acids in the products of ultrasound assisted enzymatic hydrolysis was the largest. Therefore, ultrasound assisted enzymatic hydrolysis reduced the bitterness of HN protein peptides by increasing the content of fresh amino acids.

Conclusion: Ultrasound assistance can enhance the enzymatic hydrolysis of HN proteins, thus improve the physicochemical properties and flavor characteristics of HN protein peptides.

Keywords: *Harpodon nehereus*; protein peptides; ultrasound; structure; flavor characteristics

基金项目:浙江省自然科学基金一般项目(编号:LQ21C200004)
作者简介:芦江会,男,宁波市产品食品质量检验研究院(宁波市纤维检验所)工程师。

通信作者:陈跃文(1985—),男,浙江工商大学,博士。

E-mail: chenyw@mail.zjgsu.edu.cn

收稿日期:2023-07-21 **改回日期:**2023-10-26

龙头鱼(*Harpodon nehereus*)又称豆腐鱼,是合齿鱼科、龙头鱼属的一种鱼类,地方名虾潺、狗母鱼、豆腐鱼等^[1]。在中国,龙头鱼在东海和南海渔业占有一定的分量,浙江沿海渔民捕捞龙头鱼已有悠久的历史,因其资源稳定,在当地沿海主要鱼汛期,可占渔获量的20%~40%,近年来,渔获量有所增加,分布范围明显扩大,东海北部近海龙头鱼资源量最为丰富^[2]。龙头鱼含有多种呈味氨基酸,味道鲜美,营养价值高,蛋白质含量约占其干重的70%,钙、磷含量远高于其他海洋鱼类,是名副其实的高蛋白、高钙、富磷的经济鱼类食物^[1]。然而,龙头鱼的水分含量在90%以上,肌肉蛋白不稳定,难以长期保存,造成龙头鱼资源的严重浪费^[3]。此外,龙头鱼通常被加工成干制品、鱼粉等低附加值产品或直接通过传统工艺加工,深加工、精加工途径较少^[1]。

蛋白质酶解技术因条件温和、无有害物质产生等优点,是提高水产鱼类附加值的有效方法。蛋白肽因其高营养价值、抗氧化和抗菌特性而被广泛应用于多种行业^[4]。此外,酶解技术对蛋白质的风味特征发挥着重要的作用。通过对酶解技术的控制可以使蛋白质获得较高的氨基酸、小肽和多肽含量,且具有良好的风味。然而,传统的酶解仍然受到许多条件的限制,例如底物转化率低、酶利用率低和酶水解效率低等^[3]。研究^[4-5]表明,酶解前采用适当的预处理技术,如超声波、微波、高压和脉冲电场等现代新兴技术,具有改变蛋白质的结构,提高蛋白酶解效率,改善酶解液功能性质等作用。超声波技术是一种新型的绿色环保加工技术,其可以通过机械、热和空化效应增加底物与酶接触的机会,从而提高酶水解速率^[6]。此外,超声预处理可以通过破坏底物来增加挥发性化合物类型对蛋白质酶解物的风味产生影响。Wang等^[3]发现不同功率超声预处理会对鳕鱼头酶解物风味特性产生影响。然而,关于超声预处理对龙头鱼蛋白肽结构及其风味特性的影响尚未见报道。

研究利用超声辅助酶解法制备龙头鱼蛋白肽,以木瓜蛋白酶为催化剂,研究不同超声功率条件下龙头鱼蛋白肽粒径、水解度、可溶性多肽含量、相对分子质量分布等的变化,探究不同超声强度对制备龙头鱼蛋白肽风味的影响,以为低值化水产鱼类的高值化开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

龙头鱼:浙江碧洋优鲜食品股份有限公司;

木瓜蛋白酶: >200 U/mg,上海麦克林生化科技有限公司;

氢氧化钠、无水乙醇、五水硫酸铜、硫酸、硼酸、盐酸、无水碳酸钠:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 仪器设备

低温冷冻箱:DW-380型,杭州科瑞尔制冷科技有限公司;

斩拌机:CM-14型,西班牙Mainca公司;

超声水浴锅:BKE-1010HT型,杭州博可超声波设备有限公司;

恒温水浴锅:HH-2型,陕西鑫昌实验仪器有限公司;

旋转蒸发仪:RE-3000型,上海亚荣生化仪器厂;

真空冷冻干燥机:SCIENTZ-100FG/A型,宁波新芝冻干设备股份有限公司;

马尔文激光粒度分析仪:Zetasizer型,英国马尔文仪器有限公司;

冷冻离心机:TGL-16M型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

酶标仪:INFINITE M NANO型,瑞士TECAN公司;

高效液相色谱仪:Easy nLC型,丹麦Proxeon Biosystems公司。

1.3 试验方法

1.3.1 原料及预处理 捕捞的龙头鱼经过冷库冷冻后置于冰盒中在24 h内运送至实验室。选择体长15~20 cm、体重40~60 g的龙头鱼作为试验对象。将冷冻龙头鱼置于4℃流水解冻,去除头部、尾部、鱼鳍和内脏,利用斩拌机在15℃环境中将其打成匀浆装入自封袋内,真空冷冻干燥后制成龙头鱼冻干粉,于-20℃冰箱中贮藏备用。

1.3.2 超声辅助酶解工艺 参照康永锋等^[7]的方法。将龙头鱼冻干粉按 $m_{\text{龙头鱼冻干粉}}:V_{\text{水}}=1:100$ (g/mL)溶解于蒸馏水中,并在溶液中添加木瓜蛋白酶(木瓜蛋白酶添加量6 g/100 g龙头鱼冻干粉),利用超声波水浴锅在55℃下以不同功率(0, 120, 240, 480, 600 W)超声处理1 h后继续置于55℃恒温水浴锅中酶解4 h。反应结束后将酶解液放置于95℃水浴中加热15 min使木瓜蛋白酶失活。在酶解液中加入无水乙醇至乙醇占总体积的80%,过夜醇沉后抽滤并旋蒸,冷冻干燥(-40℃, 48 h)制得龙头鱼蛋白肽冻干粉。

1.3.3 粒径测定 参照Ding等^[8]的方法,采用马尔文激光粒度分析仪对不同超声功率预处理制备的龙头鱼蛋白肽冻干粉进行粒径分布分析。用蒸馏水将各组样品溶解,得到质量浓度为0.1 mg/mL的溶液,将溶液缓慢加入石英比色皿中,设置参数进行扫描测定。

1.3.4 水解度测定 根据Sereda等^[9]的方法稍作修改,使用甲醛滴定法测定 α -氨基氮(A_N)含量,通过凯氏定氮法测定原料总蛋白氮(T_{PN})含量。将1 mL样品溶液溶于60 mL蒸馏水中,混合均匀后用0.05 mol/L NaOH滴定至溶液pH为8.2。然后加入10 mL 38%中性甲醛,用

0.05 mol/L NaOH 滴定至溶液 pH 至 9.2, 记录加入中性甲醛后消耗 NaOH 的体积 V_2 。用 1 mL 蒸馏水代替酶解液作为空白试验, 消耗 NaOH 的体积为 V_1 。 α -氨基氮 (A_N) 及样品液的水解度 (D_H) 计算如下:

$$A_N = \frac{(V_2 - V_1) \times 0.05 \times 0.014}{1}, \quad (1)$$

$$D_H = \frac{A_N}{T_{PN}} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

A_N —— α -氨基氮含量, g/mL;

D_H ——酶解液的水解度, %;

T_{PN} ——总蛋白氮含量, g/mL;

V_1 ——1 mL 蒸馏水代替酶解液作为空白试验, 消耗 NaOH 的体积, mL;

V_2 ——中性甲醛后消耗 NaOH 溶液的体积, mL;

0.05——NaOH 溶液浓度, mol/L;

0.014——相当于 1 mL 1 mol/L NaOH 的氮气质量, g;

1——滴定过程中酶解液的体积, mL。

1.3.5 可溶性多肽含量测定 根据 Kolakowski^[10] 的方法稍作修改, 采用三氯乙酸法测定可溶性多肽含量, 将龙头鱼蛋白肽与 20% TCA 按体积比 1:1 混合摇匀后静置 20 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取 100 μ L 上清液, 加福林酚甲液 500 μ L, 涡旋均匀后静置 10 min, 在混合液中加入福林酚乙液 50 μ L, 涡旋均匀后 30 $^{\circ}$ C 水浴静置 30 min, 取上述溶液 200 μ L, 测定 500 nm 处的吸光度。以牛血清蛋白浓度为横坐标, 500 nm 处吸光度为纵坐标绘制标准曲线 ($R^2 > 0.99$)。

1.3.6 相对分子质量分布测定 参照赵钰等^[11] 的方法, 用配备紫外检测器的安捷伦高效液相色谱仪测定各组样品的相对分子质量分布。色谱柱为 TSK gel G3000SWxl (30 cm $\times$ 7.8 mm), 流动相为 100 mmol/L PBS, $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, pH 6.7, 流速为 0.7 mL/min。柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样体积 10 μ L。相对分子质量分布的标准蛋白曲线用标准蛋白混合物得到, 紫外检测波长 280 nm, 其数据分析用凝胶渗透色谱软件处理。

1.3.7 氨基酸组成测定 根据 Sun 等^[12] 的方法, 通过 L-8900 型自动氨基酸分析仪测定样品中游离氨基酸的组成和含量。将 1 mL 酶解液与 1 mL 5-磺基水杨酸混合, 然后以 10 000 r/min 离心 20 min, 获得的上清液用 0.22 μ m 滤膜过滤后进样分析。基于标准氨基酸的保留时间和峰面积进行定性和定量分析。

1.3.8 电子舌分析 参照 Zhu 等^[13] 的方法, 利用 Asree II 液体和味觉分析仪进行电子舌分析, 其与 LS16 自动采样单元、参比电极和味觉传感器连接后, 将样品溶解于鲜味溶液中, 鲜味溶液由 NaCl (5 mg/mL) 和味精 (10 mg/mL)

组成, 将不含龙头鱼蛋白肽的鲜味溶液作为空白对照, 每个样品测定 3 次。

1.3.9 统计分析 每项数据以平均值 $\pm$ 标准差的形式表示, 且至少进行 3 次重复试验。使用 Excel 2019 进行数据的统计整理。使用 IBM SPSS Statistics 26 进行单因素 ANOVA 方差分析, 通过邓肯多重极差检验, 确定每项数据在统计学上具有显著性差异。使用 Origin 2022b 软件作图。

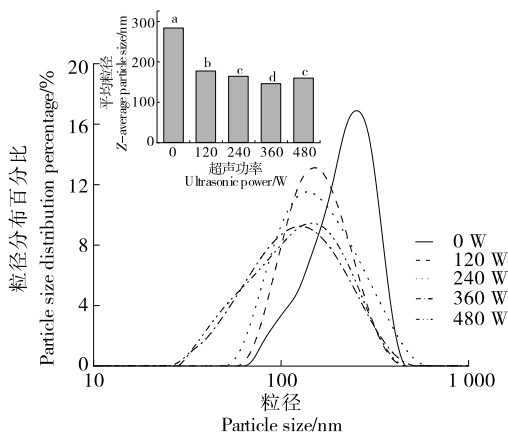
2 结果与分析

2.1 粒径分析

不同超声强度对龙头鱼蛋白肽粒径大小的影响如图 1 所示, 当超声功率从 0 W 增大至 120 W 时, 龙头鱼蛋白肽的粒径显著下降; 当超声功率从 120 W 增大至 360 W 时, 龙头鱼蛋白肽的粒径从 176.7 nm 降至 145.3 nm ($P < 0.05$)。这可能是因为超声空化效应产生的高剪切应力破坏了蛋白质分子间的相互作用^[14]; 也可能是因为超声冲击波增加了蛋白质颗粒之间的碰撞机会, 使得蛋白质聚集体因碰撞裂解成粒径更小的蛋白质碎片^[15]。当超声功率 > 360 W 时, 蛋白肽粒径开始增大, 可能是因为空化作用过强产生湍流, 导致蛋白质分子重新聚集形成大颗粒^[16]。此外, Tang 等^[17] 指出, 超声强度过高会引起非共价相互作用, 导致蛋白质的聚集。

2.2 水解度分析

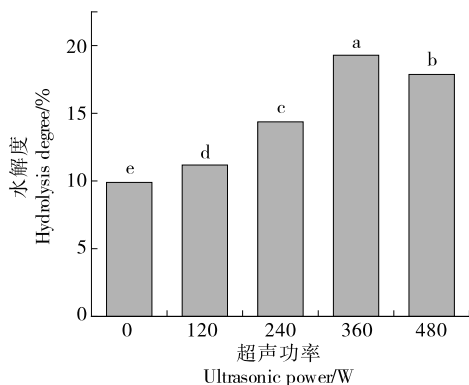
超声处理改善水解度归因于超声波空化作用产生气泡破裂、冲击波和剪切力等, 从而使得底物蛋白质的结构发生改变, 暴露出更多的酶切割位点^[18]。不同超声强度对酶解反应水解度的影响如图 2 所示, 随着超声功率的增加, 水解度呈先上升后下降的趋势, 并在 360 W 时达到 19.29%。在超声辅助酶解过程中, 超声空化效应会导致蛋白质变性释放亲水基团, 使酶更容易与底物蛋白结合,



字母不同表示不同超声功率之间差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 超声强度对龙头鱼蛋白肽粒径大小的影响

Figure 1 The effect of ultrasonic intensities on particle size of *H. nehereus* protein peptides



字母不同表示不同超声功率之间差异显著 ($P < 0.05$)

图2 超声强度对酶解反应水解度的影响

Figure 2 The effect of ultrasonic intensity on hydrolysis degree of *H. nehereus* protein peptides

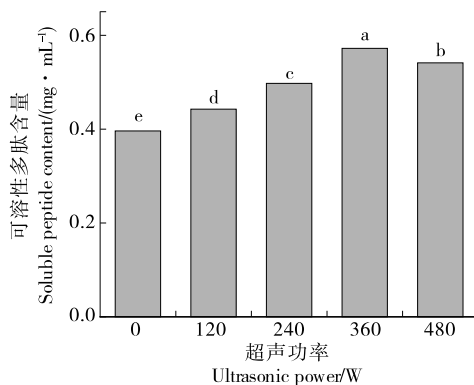
提高蛋白质转化率^[18]。此外,超声空化效应会导致蛋白质底物结构损伤和变性,减小底物的粒径,从而暴露出更多的蛋白质用于酶切割位点^[15]。Zhou等^[19]有类似的研究结果:超声预处理可以显著提高玉米蛋白粉的水解度。然而,当超声功率超过360 W时,水解度开始下降,可能是因为高强度超声使得蛋白质分子聚集(粒径增大),减少了其与蛋白酶的接触机会^[20]。此外,秦倩倩^[21]指出,酶在适当的超声强度下表现出较高的催化活性,但功率过高时,超声产生的瞬态空化作用释放出高温高压气流会破坏蛋白酶的结构,导致酶催化活性显著降低。研究^[22]表明,蛋白酶解物水解度的差异可能对蛋白肽的风味产生影响。

2.3 可溶性肽含量分析

可溶性肽比由相同氨基酸组成的蛋白质具有更高的消化率,并且比单个氨基酸具有更好的风味,其被认为是重要的风味化合物,对调味剂的开发起着至关重要的作用^[22]。由图3可知,水解后可溶性多肽含量随超声功率的增加先上升后下降,并在360 W超声功率条件下水溶性肽含量达到了最高值(0.57 mg/mL)。这可能是超声强度过低时,不能够提供足够的空化能量使蛋白质与酶接触,从而不利于可溶性肽的释放;但超声强度过大,游离出的蛋白质颗粒肽更易重新形成聚集体,蛋白的酶切位点可能被包埋起来,降低了与酶的接触机会,导致可溶性肽含量降低^[23]。

2.4 相对分子质量分布分析

由图4可知,不同超声强度制备龙头鱼蛋白肽的相对分子质量分布存在一定的差异。随着超声功率的增加,龙头鱼蛋白肽的相对分子质量向小相对分子质量的范围偏移,当超声功率为360 W时,<3 000的组分占比从67%增加至81%,其中<1 000的组分占比增加了10%,1 000~3 000的组分占比增加了5%。这可能是由



字母不同表示不同超声功率之间差异显著 ($P < 0.05$)

图3 超声强度对可溶性肽含量的影响

Figure 3 The effects of ultrasonic intensities on soluble peptides content

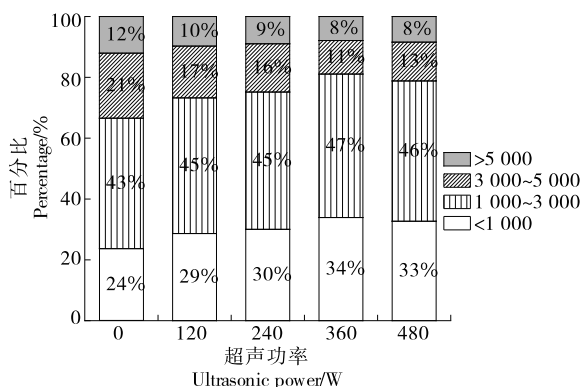


图4 超声强度对龙头鱼蛋白肽相对分子质量分布的影响

Figure 4 The effect of ultrasonic intensities on relative molecular weight distribution of *H. nehereus* protein peptides

于超声空化作用提高了酶解效率,水解度的增加使得相对分子质量小的蛋白肽含量增加。这与Wang等^[3]的研究结果有相似之处,表明了适当的超声功率有助于将蛋白质降解成风味较好的小肽。表1为龙头鱼蛋白肽相对分子质量统计结果,与图4的结果一致,均表明适度的超声能够显著降低龙头鱼蛋白肽的相对分子质量。此外,当超声功率为480 W时,由于蛋白质聚集导致的水解度降低使得<3 000龙头鱼蛋白质肽组分占比轻微降低^[20]。

2.5 氨基酸组成分析

如表2所示,游离氨基酸总含量随超声强度的升高先增加后减少,并在360 W超声强度下达到847.53 mg/g,该趋势与图2中水解度变化趋势一致,是因为深度水解会释放出更多的游离氨基酸。然而当超声强度高于360 W后,游离氨基酸总含量开始下降,可能是因为高强度超声产生的热量造成了木瓜蛋白酶的变性,导致酶解效率降低;也可能是因为超声功率过高时,体系

表 1 超声强度制备龙头鱼蛋白肽相对分子质量统计结果[†]

Table 1 The statistical results of relative molecular weight of protein peptides prepared by ultrasonic intensities

超声功率/W	峰值相对分子质量	数均相对分子质量	重均相对分子质量	多分散系数
0	3 021±92 ^a	1 487±20 ^a	2 835±20 ^a	1.91±0.01 ^a
120	1 157±11 ^b	1 257±9 ^b	2 132±13 ^c	1.70±0.02 ^c
240	1 143±6 ^b	1 240±5 ^{bc}	2 164±7 ^d	1.75±0.01 ^b
360	1 093±23 ^b	1 199±13 ^d	2 215±9 ^c	1.65±0.02 ^d
480	1 127±8 ^b	1 221±10 ^{cd}	2 254±9 ^b	1.88±0.01 ^a

[†] 字母不同表示不同超声功率之间的差异显著($P<0.05$)。

中产生的热量使超声处理过程中释放的游离氨基酸参与美拉德反应导致酶水解液中游离氨基酸含量降低^[24]。此外,超声波功率过高会引起局部高温高压和风味物质的破坏,从而降低蛋白肽中风味物质含量。同时,不同的氨基酸表达的风味不同,天冬氨酸和谷氨酸主要表达鲜味,

苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸和丙氨酸主要表达甜味,缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和组氨酸主要表达苦味^[25]。由表 2 可知,在龙头鱼蛋白肽中,苦味氨基酸占主要地位,其次是甜味和鲜味氨基酸。随着制备过程中超声强度的增加,鲜味氨基酸含量的增幅最大,表明超声辅助酶解在一定程度上可以改善龙头鱼蛋白肽的整体风味。

2.6 电子舌分析

不同超声强度制备的龙头鱼蛋白肽电子舌分析结果如表 3 所示,其中酸味信号低于-20 或其他味觉信号低于 0 被认为是不可感知的^[26]。在各组超声酶解制备的龙头鱼蛋白肽电子舌分析中,苦味占主导,其次是鲜味和涩味,经超声辅助酶解处理后,苦味信号略微降低且苦味回味消失;同时涩味和鲜味信号略微增强,表明超声辅助酶解有助于减少蛋白肽的苦味而增强其鲜味,可能与超声辅助酶解可以获得更多相对分子质量小的肽有关。这与 Zheng 等^[27]的研究结果一致,后者认为超声波和微波联合处理可以改善牛骨酶解液的风味。

表 2 不同超声强度制备的龙头鱼蛋白肽游离氨基酸组成[†]

Table 2 Free amino acid composition of *H. nehereus* protein peptides prepared by different ultrasonic intensity mg/g

氨基酸	0 W	120 W	240 W	360 W	480 W
天冬氨酸	76.25±1.50 ^c	77.87±0.67 ^{bc}	79.20±1.12 ^b	85.54±1.85 ^a	79.85±1.01 ^b
苏氨酸	33.57±0.84 ^c	34.50±0.91 ^c	36.62±1.44 ^b	38.80±0.70 ^a	37.64±0.80 ^{ab}
丝氨酸	30.87±0.88 ^c	32.45±0.53 ^{bc}	34.12±0.73 ^{ab}	35.99±2.43 ^a	33.33±0.74 ^b
谷氨酸	106.30±3.95 ^c	116.81±2.75 ^b	121.33±2.86 ^b	134.62±5.32 ^a	119.35±7.36 ^b
甘氨酸	35.14±1.69 ^b	35.86±0.36 ^b	36.11±2.00 ^b	38.77±0.67 ^a	36.12±0.03 ^b
丙氨酸	48.40±0.86 ^d	49.44±0.66 ^d	54.21±0.64 ^b	59.01±1.36 ^a	51.53±0.66 ^c
胱氨酸	2.30±0.17 ^b	2.75±0.21 ^b	2.38±0.50 ^b	3.48±0.05 ^a	3.77±0.04 ^a
缬氨酸	36.87±0.68 ^c	37.48±0.46 ^c	39.95±1.23 ^b	42.31±0.59 ^a	37.79±1.06 ^c
蛋氨酸	36.51±0.94 ^b	36.69±1.50 ^b	38.51±0.71 ^b	41.00±1.47 ^a	38.05±1.14 ^b
异亮氨酸	44.49±2.82 ^c	45.65±1.02 ^{bc}	45.96±0.84 ^{bc}	48.42±1.12 ^{ab}	49.80±0.92 ^a
亮氨酸	56.95±3.53 ^c	59.19±1.18 ^{bc}	60.78±0.46 ^b	65.84±1.05 ^a	61.87±1.60 ^b
酪氨酸	23.91±1.35 ^d	25.27±0.86 ^{cd}	27.17±0.44 ^{bc}	32.70±1.96 ^a	28.66±1.60 ^b
苯丙氨酸	28.47±0.06 ^c	28.21±0.56 ^c	28.48±0.31 ^c	35.11±1.40 ^a	31.57±0.97 ^b
组氨酸	18.13±0.03 ^c	18.74±0.07 ^{bc}	18.15±0.42 ^c	20.63±0.43 ^a	18.92±0.40 ^b
赖氨酸	71.79±1.49 ^c	73.40±0.45 ^c	48.59±0.53 ^b	88.40±1.21 ^a	79.61±1.20 ^b
精氨酸	39.35±0.70 ^b	40.76±0.82 ^b	40.84±0.35 ^b	43.19±1.68 ^a	38.98±1.54 ^b
脯氨酸	30.25±0.17 ^b	31.40±0.94 ^b	31.13±1.04 ^b	33.74±0.46 ^a	33.90±1.70 ^a
鲜味氨基酸	182.55±3.24 ^c	194.68±3.08 ^b	200.53±3.98 ^b	220.16±6.72 ^a	199.21±6.91 ^b
甜味氨基酸	217.59±4.06 ^d	224.41±2.64 ^{cd}	233.03±5.20 ^{bc}	249.49±4.99 ^a	231.50±1.23 ^b
苦味氨基酸	221.43±2.91 ^d	225.96±4.45 ^{cd}	231.83±2.91 ^{bc}	253.31±3.94 ^a	238.00±2.96 ^b
总氨基酸	719.56±11.56 ^d	746.46±11.27 ^c	773.54±12.28 ^b	847.53±16.21 ^a	780.74±7.69 ^b

[†] 鲜味氨基酸包括:天冬氨酸、谷氨酸;甜味氨基酸包括:苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸;苦味氨基酸包括:缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、组氨酸;字母不同表示不同超声功率的差异显著($P<0.05$)。

表 3 不同超声强度制备的龙头鱼蛋白肽电子舌分析[†]

Table 3 E-tongue analysis of *H. nehereus* protein peptides prepared by different ultrasonic intensity

滋味	0 W	120 W	240 W	360 W	480 W
酸味	-36.58±0.14 ^b	-35.25±0.57 ^a	-36.55±0.36 ^b	-36.51±0.27 ^b	-36.22±0.35 ^b
苦味	15.72±0.03 ^a	15.53±0.01 ^e	15.44±0.02 ^d	15.38±0.02 ^b	15.48±0.01 ^c
涩味	6.08±0.01 ^e	6.96±0.03 ^d	6.88±0.02 ^c	6.83±0.02 ^a	6.93±0.01 ^b
苦味回味	0.58±0.10 ^a	-0.12±0.04 ^b	-0.29±0.06 ^c	-0.35±0.05 ^c	-0.26±0.02 ^c
涩味回味	-1.17±0.01 ^a	-1.21±0.02 ^b	-1.15±0.01 ^a	-1.16±0.02 ^a	-1.16±0.01 ^a
鲜味	7.71±0.05 ^d	7.86±0.02 ^c	7.96±0.05 ^b	8.08±0.05 ^a	7.96±0.03 ^b
丰富性	1.19±0.02 ^b	1.28±0.02 ^a	1.29±0.05 ^a	1.32±0.01 ^a	1.31±0.02 ^a
咸味	-7.03±0.10 ^a	-7.11±0.06 ^a	-7.11±0.09 ^a	-7.11±0.00 ^a	-7.09±0.01 ^a

[†] 字母不同表示不同超声功率的差异显著($P<0.05$)。

3 结论

通过研究超声强度对龙头鱼蛋白肽结构及风味特性的影响,发现在超声强度为 360 W 时,龙头鱼蛋白水解度以及可溶性肽含量达到最高。超声预处理显著降低了龙头鱼蛋白肽的粒径和相对分子质量,<3 000 的组分占比从 67%增加至 82%。此外,传统水浴酶解制备的龙头鱼蛋白肽风味由苦味占主导并有轻微的苦味回味,超声辅助酶解有助于通过增加鲜味氨基酸的含量而降低其苦味。综上,适当的超声强度有助于提高酶解效率,并将蛋白质降解成生物活性更高的小分子蛋白肽,改善蛋白肽的风味,但超声波辅助酶解改善龙头鱼蛋白肽风味的机理还有待进一步研究。

参考文献

[1] CHAKRABORTY P, SAHOO S, BHATTACHARYYA D K, et al. Marine lizardfish (*Harpodon nehereus*) meal concentrate in preparation of ready-to-eat protein and calcium rich extruded snacks[J]. J Food Sci Technol, 2020, 57(1): 338-349.

[2] KAKATKAR A, SHARMA A, VENUGOPAL V. Hydration of muscle proteins of Bombay duck (*Harpodon nehereus*) during acetic acid-induced gelation and characteristics of the gel dispersion [J]. Food Chemistry, 2003, 83: 99-106.

[3] WANG Y Y, TANG X H, LUAN J J, et al. Effects of ultrasound pretreatment at different powers on flavor characteristics of enzymatic hydrolysates of cod (*Gadus macrocephalus*) head[J]. Food Research International, 2022, 159: 111612.

[4] BALCIK MISIR G, KORAL S. Effects of edible coatings based on ultrasound-treated fish proteins hydrolysate in quality attributes of chilled bonito fillets [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2019, 28(10): 999-1 012.

[5] CHEMAT F, ROMBAUT N, SICAIRE A G, et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: A review[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34: 540-560.

[6] JOHNSON ESUA O, SUN D W, CHENG J H, et al. Functional and bioactive properties of *Larimichthys polyactis* protein hydrolysates as influenced by plasma functionalized water-ultrasound hybrid treatments and enzyme types[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 86: 106023.

[7] 康永锋, 康俊霞, 吴文惠, 等. 超声波、微波对鲑鱼肽结构及抗氧化性的影响[J]. 食品工业科技, 2013, 34(5): 66-70.

KANG Y F, KANG J X, WU W H, et al. Study on the effect and structure of ultrasonic and microwave on the antioxidant peptides from salmon[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(5): 66-70.

[8] DING L, HUANG Y, CAI X X, et al. Impact of pH, ionic strength and chitosan charge density on chitosan/casein complexation and phase behavior[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 208: 133-141.

[9] SEREDA A S, KOSTYLEVA E V, VELIKORETSKAYA I A, et al. Whey proteins hydrolysis using alcalase and flavourzyme[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2022, 1 052(1): 012045.

[10] KOLAKOWSKI E. Determination of peptides in fish and fish products Part 1: Application of amido black 10B for determination of peptides in trichloroacetic acid extracts of fish meat[J]. Die Nahrung, 1974, 18(4): 371-383.

[11] 赵钰, 余小月, 熊喆, 等. 超声辅助酶解制备草鱼鳞胶原肽及其理化特性评价[J]. 现代食品科技, 2022, 38(9): 159-170.

ZHAO Y, YU X Y, XIONG Z, et al. Grass carp scale collagen peptide preparation by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis and their physicochemical property evaluation [J]. Molde Food Science and Technology, 2022, 38(9): 159-170.

[12] SUN A, CHEN L N, WU W, et al. The potential meat flavoring generated from Maillard reaction products of wheat gluten protein hydrolysates-xylose: Impacts of different thermal treatment temperatures on flavor [J]. Food Research International, 2023, 165: 112512.

[13] ZHU B H, HUI T T, LI X H. Effects of microwave heating on sensory properties and antioxidant activity of Maillard reaction products from enzymatic hydrolysate of *Acetes chinensis* [J].

- Journal of Aquatic Food Product Technology, 2023, 32 (3): 304-320.
- [14] LI H J, HU Y F, ZHAO X H, et al. Effects of different ultrasound powers on the structure and stability of protein from sea cucumber gonad[J]. LWT-Food Science & Technology, 2021, 137: 110403.
- [15] 田然, 冯俊然, 隋晓楠, 等. 高强度超声处理对大豆 7S 和 11S 球蛋白结构和理化性质的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(5): 87-97.
- TIAN R, FENG J R, SUI X N, et al. Effect of high intensity ultrasound on the conformational and physicochemical properties of soy 7S and 11S globulin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(5): 87-97.
- [16] KANG D C, ZOU Y H, CHENG Y P, et al. Effects of power ultrasound on oxidation and structure of beef proteins during curing processing[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 33: 47-53.
- [17] TANG C H, WANG X Y, YANG X Q, et al. Formation of soluble aggregates from insoluble commercial soy protein isolate by means of ultrasonic treatment and their gelling properties[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 92(4): 432-437.
- [18] O'SULLIVAN J, MURRAY B, FLYNN C, et al. The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 53: 141-154.
- [19] ZHOU C S, HU J L, YU X J, et al. Heat and/or ultrasound pretreatments motivated enzymolysis of corn gluten meal: Hydrolysis kinetics and protein structure[J]. LWT-Food Science & Technology, 2017, 77: 488-496.
- [20] WANG Z B, LIN X M, LI P P, et al. Effects of low intensity ultrasound on cellulase pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2012, 117: 222-227.
- [21] 秦倩倩. 超声波预处理对草鱼皮胶原蛋白特性和酶解产物活性的影响[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2019: 45.
- QIN Q Q. Effects of ultrasound pretreatment on properties of collagen from grass carp skin and activities of its hydrolysates[D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology, 2019: 45.
- [22] BRUNO S F, KUDRE T G, BHASKAR N. Effects of different pretreatments and proteases on recovery, umami taste compound contents and antioxidant potentials of *Labeo rohita* head protein hydrolysates[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56: 1 966-1 977.
- [23] LAN X H, LIU P, XIA S Q, et al. Temperature effect on the non-volatile compounds of Maillard reaction products derived from xylose-soybean peptide system: Further insights into thermal degradation and cross-linking[J]. Food Chemistry, 2010, 120(4): 967-972.
- [24] LI X P, LIU Y W, WANG Y Y, et al. Combined ultrasound and heat pretreatment improve the enzymatic hydrolysis of clam (*Aloididae aloid*) and the flavor of hydrolysates[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 67: 102596.
- [25] ZHAO C J, SCHIEBER A, GÄ NALE M G. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations-A review[J]. Food Research International, 2019, 89: 39-47.
- [26] ZHANG Z Y, ELFALLEH W, HE S D, et al. Heating and cysteine effect on physicochemical and flavor properties of soybean peptide Maillard reaction products[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 2 137-2 146.
- [27] ZHENG Z L, ZHANG M, FAN H, et al. Effect of microwave combined with ultrasonic pretreatment on flavor and antioxidant activity of hydrolysates based on enzymatic hydrolysis of bovine bone[J]. Food Bioscience, 2021, 44: 101399.
- (上接第 17 页)
- [19] 张彤. 火龙果真空冷冻干燥热质传递理论与实验研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022: 4.
- ZHANG T. Theoretical and experimental study on heat and mass transfer in vacuum freeze drying of pitaya fruit [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022: 4.
- [20] 张爱琳. 香蕉预冻过程传热性能及真空冷冻干燥工艺优化研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2020: 44.
- ZHANG A L. Study on heat transfer performance and vacuum freeze-drying process optimization of bananas during pre-freezing [D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2020: 44.
- [21] 易丽, 杨薇, 王晨, 等. 番木瓜片真空冷冻干燥工艺研究[J]. 农产品加工, 2016(17): 19-22.
- YI L, YANG W, WANG C, et al. Study on vacuum freeze-drying technology of papaya slices [J]. Processing of Agricultural Products, 2016(17): 19-22.
- [22] 高续春, 代宏哲, 樊君, 等. 红枣冻干升华工艺优化研究[J]. 当代化工, 2009, 38(4): 335-339.
- GAO X C, DAI H Z, FAN J, et al. Optimization of freeze-drying and sublimation process for red jujube[J]. Contemporary Chemical Industry, 2009, 38(4): 335-339.
- [23] 郭帅帅. 冷冻干燥中传热传质过程的实验和数值模拟研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2021: 46.
- GUO S S. Experimental and numerical simulation of heat and mass transfer in freeze-drying [D]. Qingdao: Qingdao University, 2021: 46.
- [24] 王雅博, 诸凯, 代宝民, 等. 冷却速率对洋葱内表皮细胞结构的影响[J]. 制冷学报, 2018, 39(6): 129-134.
- WANG Y B, ZHU K, DAI B M, et al. Effect of cooling rate on cell structure of inner epidermis of onion[J]. Journal of Refrigeration, 2018, 39(6): 129-134.
- [25] 赵延强. 具有初始孔隙多孔物料冷冻干燥的实验研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2015: 27.
- ZHAO Y Q. Experimental study on freeze drying of porous materials with initial porosity from aqueous solution[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2015: 27.